

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

IN RE APPLICATION OF: Yumi MATSUZAKI, et al.

GAU:

SERIAL NO: NEW APPLICATION

EXAMINER:

FILED: HEREWITH

FOR: PLASMID AUTONOMOUSLY REPLICABLE IN CORYNEFORM BACTERIA



REQUEST FOR PRIORITY

ASSISTANT COMMISSIONER FOR PATENTS
WASHINGTON, D.C. 20231

SIR:

- ☐ Full benefit of the filing date of U.S. Application Serial Number, filed, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §120.
- ☐ Full benefit of the filing date of U.S. Provisional Application Serial Number, filed, is claimed pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119(e).
- ☒ Applicants claim any right to priority from any earlier filed applications to which they may be entitled pursuant to the provisions of 35 U.S.C. §119, as noted below.

In the matter of the above-identified application for patent, notice is hereby given that the applicants claim as priority:

<u>COUNTRY</u>	<u>APPLICATION NUMBER</u>	<u>MONTH/DAY/YEAR</u>
Japan	11-228391	August 12, 1999

Certified copies of the corresponding Convention Application(s)

- ☒ are submitted herewith
- ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee
- ☐ were filed in prior application Serial No. filed
- ☐ were submitted to the International Bureau in PCT Application Number .
Receipt of the certified copies by the International Bureau in a timely manner under PCT Rule 17.1(a) has been acknowledged as evidenced by the attached PCT/IB/304.
- ☐ (A) Application Serial No.(s) were filed in prior application Serial No. filed ; and
(B) Application Serial No.(s)
 - ☐ are submitted herewith
 - ☐ will be submitted prior to payment of the Final Fee

Respectfully Submitted,

OBLON, SPIVAK, McCLELLAND,
MAIER & NEUSTADT, P.C.

Norman F. Oblon

Registration No. 24,618
C. Irvin McClelland

Registration Number 21,124



22850

日 本 国 特 許 庁
PATENT OFFICE
JAPANESE GOVERNMENT

JC784 U.S. PTO
09/636458
08/11/00

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日

Date of Application:

1999年 8月12日

出 願 番 号

Application Number:

平成11年特許願第228391号

出 願 人

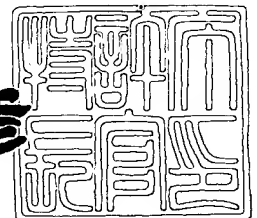
Applicant (s):

味の素株式会社

2000年 3月31日

特許庁長官
Commissioner,
Patent Office

近 藤 隆 彦



出証番号 出証特2000-3022305

【書類名】 特許願

【整理番号】 P-6558

【提出日】 平成11年 8月12日

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 C12N 15/00

【発明の名称】 コリネ型細菌で自律複製可能な新規プラスミド

【請求項の数】 5

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発酵
技術研究所内

 【氏名】 松崎 友美

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発酵
技術研究所内

 【氏名】 木村 英一郎

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発酵
技術研究所内

 【氏名】 中松 亘

【発明者】

 【住所又は居所】 神奈川県川崎市川崎区鈴木町 1 - 1 味の素株式会社発酵
技術研究所内

 【氏名】 倉橋 修

【特許出願人】

 【識別番号】 000000066

 【氏名又は名称】 味の素株式会社

【代理人】

 【識別番号】 100089244

 【弁理士】

【氏名又は名称】 遠山 勉

【選任した代理人】

【識別番号】 100090516

【弁理士】

【氏名又は名称】 松倉 秀実

【選任した代理人】

【識別番号】 100100549

【弁理士】

【氏名又は名称】 川口 嘉之

【連絡先】 0 3 - 3 6 6 9 - 6 5 7 1

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 012092

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【ブルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 コリネ型細菌で自律複製可能な新規プラスミド

【特許請求の範囲】

【請求項 1】 コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスから単離し得るプラスミドであって、配列番号 2 に示すアミノ酸配列、又は同アミノ酸配列と 9 0 % 以上の相同性を持つアミノ酸配列を有する R e p タンパク質をコードする遺伝子を含み、大きさが約 4 . 4 K b 又は約 6 K b であるプラスミド又はその誘導体。

【請求項 2】 前記プラスミドは、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス F E R M B P - 1 5 3 9、F E R M B P - 1 5 4 0 又は F E R M B P - 1 5 4 2 から単離し得る約 4 . 4 K b の大きさを持つプラスミドであって、図 1 に示す制限酵素地図を有する請求項 1 記載のプラスミド又はその誘導体。

【請求項 3】 前記プラスミドは、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス F E R M B P - 1 5 4 1 から単離し得る約 6 K b の大きさを持つプラスミドであって、図 2 に示す制限酵素地図を有する請求項 1 記載のプラスミド又はその誘導体。

【請求項 4】 配列番号 2、4 又は 6 に示すアミノ酸配列のいずれかを有する R e p タンパク質をコードする遺伝子を含む請求項 1 記載のプラスミド又はその誘導体。

【請求項 5】 配列番号 8 に示すアミノ酸配列を有する R e p タンパク質をコードする遺伝子を含む請求項 1 記載のプラスミド又はその誘導体。

【発明の詳細な説明】

【0 0 0 1】

【発明の属する技術分野】

本発明は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス (*Corynebacterium thermoaminogenes*) に由来する新規なプラスミドに関する。本発明のプラスミドは、L-アミノ酸等の有用物質の生産菌として使用されているコリネ型細菌の育種に利用することができる。

【0 0 0 2】

【従来の技術】

L-グルタミン酸、L-リジンを始めとするアミノ酸は、主としてプレバクテリウム属、コリネバクテリウム属またはマイクロバクテリウム属に属するいわゆるコリネ型細菌またはそれらの変異株を用いた発酵法により製造されている（アミノ酸発酵、学会出版センター、195～215頁、1986年）。

【0003】

アミノ酸発酵の工業生産において、経済性を高める技術的な要因として、対糖収率の向上、培養時間の短縮化、アミノ酸蓄積濃度の向上等に加えて、培養温度の高温化が重要なものとして考えられている。すなわち、培養は、通常発酵至適温度で行われ、コリネバクテリウム・グルタミカムでは至適温度は31.5℃である。培養が開始されると発酵熱が発生するために、培養温度が上昇し、アミノ酸の生産は著しく低下する。従って、培養液の温度を至適に維持するためには、冷却設備が必要である。一方、培養温度を高温化すれば、冷却に必要なエネルギーを減少させることが可能となり、さらに冷却設備を小さくすることができる。

【0004】

コリネ型細菌の中では、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスが高温域で生育できるコリネ型細菌として分離化されている（特開昭63-240779号）。コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスは、コリネバクテリウム・グルタミカムが40℃では著しく生育が抑制されるのに対し、約40℃以上でも生育でき、高温発酵に適していると考えられる。

【0005】

現在、エシェリヒア・コリやコリネ型細菌において、DNA組換え技術による育種改良が進んでいる。DNA組換え技術により微生物の育種改良を行うには、他の種又は属に属する微生物由来のプラスミドや、高宿主域ベクターを用いることも少なくないが、一般的には育種対象の微生物固有のプラスミドが用いられる。特に、育種対象の微生物の培養至適温度が、同種又は同属の微生物と異なる場合には、固有のプラスミドを用いることが好ましい。

【0006】

コリネ型細菌に由来するプラスミドとしては、これまでに、プレバクテリウ

ム・ラクトファーメンタムATCC13869からのpAM330 (特開昭58-67669号)、プレビ
 バクテリウムラクトファーメンタムATCC21798からのpBL1 (Santamaria. R.等.,
 J. Gen. Microbiol., 130第2237頁-第2246頁、1984年)、コリネバクテリウム
 ・グルタミカムATCC13058からのpHM1519 (特開昭58-77895号)、コリネバクテリ
 ウム・グルタミカムATCC31808からのpCG1 (特開昭57-134500号)、コリネバクテ
 リウム・グルタミカムDSM58からのpGA1 (特開平9-2603011号) が取得されている
 。

【0 0 0 7】

しかし、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスにおいては、固有のプラス
 ミドは現在のところ取得されていない。

【0 0 0 8】

【発明が解決しようとする課題】

本発明は、高温で生育可能なコリネ型細菌コリネバクテリウム・サーモアミノ
 ゲネスの育種、改良に有用なプラスミドを提供することを課題とする。

【0 0 0 9】

【課題を解決するための手段】

本発明者らは、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスFERM BP-1
 539、FERM BP-1540、FERM BP-1541及びFERM
 BP-1542が、それぞれの菌株固有のクリプティックプラスミドを保持して
 いることを見出し、これのプラスミドを単離、同定することに成功し、本発明を
 完成するに至った。

【0 0 1 0】

すなわち本発明は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスから単離し得る
 プラスミドであって、配列番号2に示すアミノ酸配列、又は同アミノ酸配列と9
 0%以上の相同性を持つアミノ酸配列を有するRepタンパク質をコードする遺
 伝子 (rep遺伝子) を含み、大きさが約4.4 Kb又は約6 Kbであるプラス
 ミド又はその誘導体である。

【0 0 1 1】

前記プラスミドとしては、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスFERM

BP-1539、FERM BP-1540又はFERM BP-1542から単離し得る約4.4Kbの大きさを持つプラスミドであって、図1に示す制限酵素地図を有するプラスミド、又は、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス FERM BP-1541から単離し得る約6Kbの大きさを持つプラスミドであって、図2に示す制限酵素地図を有するプラスミドが挙げられる。

【0012】

また前記プラスミドとして具体的には、配列番号2、4又は6に示すアミノ酸配列のいずれかを有するRepタンパク質をコードするプラスミド、又は、配列番号8に示すアミノ酸配列を有するRepタンパク質をコードするプラスミドが挙げられる。

【0013】

【発明の実施の形態】

本発明のプラスミドは、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス FERM BP-1539、FERM BP-1540、FERM BP-1541又はFERM BP-1542から、アルカリ法（生物工学実験書、日本生物工学会編、105頁、培風館、1992年）等の通常のプラスミドの調製法にしたがって単離することができる。FERM BP-1539は、1987年3月13日に工業技術院生命工学工業技術研究所（郵便番号305-8566日本国茨城県つくば市東一丁目1番3号）にFERM P-9277の受託番号で寄託された原寄託から、1987年10月27日にブダペスト条約に基づく国際寄託に移管され、同寄託機関に寄託されている。また、FERM BP-1540、FERM BP-1541及びFERM BP-1542は、1987年3月10日に前記寄託機関に各々順にFERM P-9244、FERM P-9245及びFERM P-9246の受託番号で寄託された原寄託から、1987年10月27日にブダペスト条約に基づく国際寄託に移管され、同寄託機関に寄託されている。

【0014】

本発明者らは、上記コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス FERM BP-1540、FERM BP-1542、FERM BP-1539及びFERM BP-1541から、それぞれ固有のプラスミドを単離、同定し、順にpY

M1、pYM2、pYM3及びpYM4と命名した。これらのプラスミドは、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの細胞中では二本鎖環状DNAとして存在するプラスミドである。pYM1が保持するrep遺伝子の塩基配列を配列番号1に、pYM2が保持するrep遺伝子の塩基配列を配列番号3に、pYM3が保持するrep遺伝子の塩基配列を配列番号5に、及びpYM4が保持するrep遺伝子の塩基配列を配列番号7に示す。また、これらのプラスミドが保持するrep遺伝子がコードし得るアミノ酸配列を、配列番号2、4、6及び8に示す。pYM1、pYM2及びpYM3は、約4.4kbの大きさを持つ。また、pYM4は、約6kbの大きさを持つ。

【0015】

pYM1、pYM2及びpYM3を代表的な制限酵素で切断したときに得られる断片の数及び大きさを、表1に示す。また、pYM4を代表的な制限酵素で切断したときに得られる断片の数及び大きさを、表2に示す。さらに、pYM1、pYM2及びpYM3の制限酵素地図を図1に、pYM4の制限酵素地図を図2に示す。

【0016】

【表1】

表 1

制限酵素	切断位置の数	DNAフラグメント(Kb)
BglII	0	—
BamHI	2	1.8, 2.6
BstPI	1	4.4
EcoRI	1	4.4
HincII	4	0.3, 0.5, 2.0, 1.6
HindIII	0	—
KpnI	0	—
NaeI	2	0.1, 4.3

NcoI	1	4.4,
NheI	2	1.8, 2.6
PmaCI	1	4.4
SacI	0	—
SalI	0	—
SacII	3	0.1 1.4 2.9
SmaI	3	0.1 1.8 2.5
SphI	0	—
Tth111I	1	4.4
XbaI	0	—

【0 0 1 7】

【表 2】

表 2

制限酵素	切断位置の数	DNAフラグメント(Kb)
BglII	1	6.0
BamHI	2	3.8, 2.2
BstPI	2	1.2, 4.8
EcoRI	1	6.0
HincII	4	0.3, 0.4, 1.2, 1.7, 2.4
HindIII	0	—
KpnI	0	—
NaeI	2	0.1, 5.9
NcoI	3	0.2, 2.8, 3.0
NheI	3	0.1, 2.3, 3.6
PmaCI	0	—
SacI	0	—

SalI	0	—
SacII	5	0.1, 0.2, 0.9, 1.8, 3.0
SmaI	2	0.1 5.9
SphI	0	—
Tth111I	0	—
XbaI	0	—

【0018】

本発明のプラスミドの塩基配列を決定した結果、pYM1、pYM2及びpYM3は、それぞれ4368bp、4369bp、4369bpであり、ほぼ同一の構造を有し、塩基配列レベルで99.9%の相同性を有している。一方、pYM4は5967bpであり、pYM1、pYM2及びpYM3との相同性は約81%であるが、約1.6kbの領域を除く約4.4kbの領域では非常に高い相同性を有している。

【0019】

本発明のプラスミドはいずれも、それぞれ相同性の高いrep遺伝子を保持している。各rep遺伝子がコードするRepタンパク質のアミノ酸配列（配列番号2、4、6及び8）、及び公知のコリネ型細菌のプラスミドが保持するrep遺伝子がコードするRepタンパク質のアミノ酸配列について相同性を比較した。pYM1、pYM2及びpYM3は相同性が99%以上あり、pYM2とpYM4の間では相同性は81.91%であった。一方、公知のコリネ型細菌のプラスミドpAM330とは全く相同性がなく、pGA1、pCG1との相同性は80%以下であった。結果を表3に示す。このように、本発明のプラスミドと公知のコリネ型細菌のプラスミドは、Repタンパク質の相同性によって区別することができる。

【0020】

【表3】

表3種々のプラスミドがコードする
Repタンパク質のアミノ酸配列の相同性

	pYM2	pYM4	pGA1	pCG1
pYM2	—	81.91%	68.01%	70.73%
pYM4	—	—	69.39%	70.23%
pGA1	—	—	—	75.31%
pCG1	—	—	—	—

【 0 0 2 1 】

本発明のプラスミドはコリネバクテリウム・サーモアミノゲネスをはじめとするコリネ型細菌細胞中でよく複製できるので、これらのプラスミド又はその誘導体のいずれかの位置に外来遺伝子を挿入し、得られる組換えプラスミドで宿主微生物を形質転換すれば、その外来遺伝子の遺伝情報を宿主微生物内で発現させることが可能となる。

【 0 0 2 2 】

コリネ型細菌としては、以下のようなものがある。

コリネバクテリウム・アセトアシドフィラム

コリネバクテリウム・アセトグルタミカム

コリネバクテリウム・カルナエ

コリネバクテリウム・グルタミカム

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス

コリネバクテリウム・リリウム (コリネバクテリウム・グルタミカム)

コリネバクテリウム・メラセコーラ

ブレビバクテリウム・ディバリカタム (コリネバクテリウム・グルタミカム)

ブレビバクテリウム・ラクトフェルメンタム (コリネバクテリウム・グルタミカム)

ブレビバクテリウム・サッカロリティカム

ブレビバクテリウム・インマリオフィルム

ブレビバクテリウム・ロゼウム

ブレバクテリウム・フラバム（コリネバクテリウム・グルタミカム）

ブレバクテリウム・チオゲニタリス

【 0 0 2 3 】

本発明のプラスミドの誘導体とは、本発明のプラスミドの一部、又は本発明のプラスミドもしくは本発明のプラスミドと他のDNA配列からなるプラスミドをいう。本発明のプラスミドは、プラスミドの自律複製に必須な領域（複製制御領域）、すなわち複製開始点及び複製に必要な遺伝子を含む領域以外の領域は、その一部又は全部を取り除いても宿主微生物内で複製することができ、しかもその大きさはより小さくなるので、ベクターとして使用するには好ましい。また、本発明のプラスミド又はその一部に、薬剤耐性遺伝子等のマーカー遺伝子を搭載しておくと、形質転換体中でのマーカー遺伝子の表現型によって、形質転換体の検出が容易となる。前記宿主に使用可能なマーカー遺伝子としては、クロラムフェニコール耐性遺伝子、カナマイシン耐性遺伝子、ストレプトマイシン耐性遺伝子、テトラサイクリン耐性遺伝子、トリメトプリム耐性遺伝子、エリスロマイシン耐性遺伝子等が挙げられる。

【 0 0 2 4 】

また、本発明のプラスミド又はその一部と、エシェリヒア・コリ等の細菌で自律複製可能なプラスミド又はその複製制御領域を含む一部とを連結し、コリネ型細菌及びエシェリヒア・コリ等の細菌の双方で自律複製可能なシャトルベクターとすることにより、プラスミドの調製、目的遺伝子を搭載させた組換えプラスミドの調製等の操作をエシェリヒア・コリを用いて行うことができる。エシェリヒア・コリで自律複製可能なプラスミドとしては、例えばpUC19、pUC18、pBR322、pHSG299、pHSG298、pHSG399、pHSG398、RSF1010、pMW119、pMW118、pMW219、pMW218等が挙げられる。

【 0 0 2 5 】

pYM1、pYM2、pYM3及びpYM4自体は、図1、2に示す制限酵素地図によって特徴付けられるが、本発明のプラスミドはこれらの制限酵素地図を有する必然性はなく、自律複製能に影響のない限り、任意の制限酵素部位を消滅させてもよい。また、本発明のプラスミドは、pYM1、pYM2、pYM3及

び p YM 4 が有していない制限酵素部位が導入されていてもよい。

【 0 0 2 6 】

上記のようなプラスミドの誘導体の作製は、従来知られているクローニングベクターや発現ベクター等の作製と同様にして行うことができる。誘導体を作製するには、p YM 1、p YM 2、p YM 3 及び p YM 4 の塩基配列を決定しておくことが好ましい。塩基配列は、ダイデオキシ法等の公知の方法によって決定することができる。

【 0 0 2 7 】

本発明のプラスミド又はその誘導体に外来遺伝子を挿入するには、これらのプラスミド又は誘導体の制限酵素部位に挿入するのが便利である。制限酵素部位としては、被切断箇所が一箇所であるものが望ましい。外来遺伝子を挿入するには、プラスミドおよび外来遺伝子源となるゲノム DNA 等を、それぞれの切断末端の突出部分が同じ配列となるような制限酵素、例えば同じ制限酵素で部分的あるいは完全消化し、これらを適当な条件下で連結すればよい。また、平滑末端で連結してもよい。

【 0 0 2 8 】

プラスミド DNA の調製、DNA の切断及び連結、形質転換等の方法は、当業者によく知られている通常の方法を採用することができる。これらの方法は、Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T., "Molecular Cloning A Laboratory Manual, Second Edition", Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989) 等に記載されている。

【 0 0 2 9 】

【実施例】

以下、実施例に基づき、発明の内容を詳細に説明する。

【 0 0 3 0 】

< 1 > コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス (FERM BP-1539、FERM BP-1540、FERM BP-1541、FERM BP-1542) からのプラスミドの単離及び特性決定

コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス FERM BP-1539、FERM BP-1540、FERM BP-1541、FERM BP-1542 を CM2B 液体培地 (Bacto-trypton (Difco) 1%、Bacto-yea

st-extract (Difco) 1%, NaCl 0.5%, biotin 10 μ g/L) で 12 時間培養し、アルカリ法 (生物工学実験書、日本生物工学会編、105 頁、培風館、1992 年) によってプラスミド DNA 画分を取得した。これらの画分をアガロースゲル電気泳動 (Sambrook, J., Fritsch, E. F., and Maniatis, T., "Molecular Cloning A Laboratory Manual, Second Edition", Cold Spring Harbor Laboratory Press, (1989)) で分析したところ、いずれも DNA のバンドが検出され、上記菌株がプラスミドを保持していることが明らかとなった。FERM BP-1540、FERM BP-1542、FERM BP-1539 から調製したプラスミドは、それぞれ p YM 1、p YM 2、p YM 3 と命名された。また、FERM BP-1541 から調製したプラスミドは p YM 4 と命名された。プラスミド p YM 1、p YM 2、p YM 3 は約 4.4Kb の長さを有し、プラスミド p YM 4 は約 6.0Kb の長さを有していた。

【 0 0 3 1 】

プラスミド p YM 1、p YM 2、p YM 3 及び p YM 4 を、制限酵素 BglIII、BamHI、BstPI、EcoRI、HincII、HindIII、KpnI、NaeI、NcoI、NheI、PmaCI、SacI、SacII、SalI、SmaI、SphI、TthIII、XbaI (Takara 社製) で処理し、生じる DNA フラグメントの長さをアガロースゲル電気泳動で測定した。電気泳動は、0.8% のアガロースゲルを用い、100V/cm で数時間、定電圧で泳動を行った。分子量マーカーには、制限酵素 HindIII で切断された λ ファージ DNA (宝酒造 (株)) を用いた。p YM 1、p YM 2 及び p YM 3 についての結果を表 1 に示した。また、p YM 4 についての結果を表 2 に示した。これらの結果に基づいて作成した p YM 1、p YM 2 及び p YM 3 の制限酵素地図を図 1 に、p YM 4 の制限酵素地図を図 2 に示す。

【 0 0 3 2 】

p YM 1、p YM 2、p YM 3 及び p YM 4 の塩基配列を、ダイデオキシ法により決定した結果を順に配列番号 1、3、4 及び 6 に示す。

【 0 0 3 3 】

【発明の効果】

本発明により、コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス由来の新規なプラスミドが提供される。

【 0 0 3 4 】

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> 味の素株式会社 (Ajinomoto Co., Inc)

<120> コリネ型細菌で自律複製可能な新規プラスミド

<130> P-6558

<140>

<141> 1999-08-12

<160> 8

<170> PatentIn Ver. 2.0

【 0 0 3 5 】

<210> 1

<211> 1479

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1476)

<400> 1

atg act cta gcg gat tcg cca gga aca tac aca gca gat gcg tgg aat 48

Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn

1	5	10	15	
tac tcc act gat ctg ttc gac acc cac cct gag ctg gct tta cgc tcc	96			
Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser				
20	25	30		
cgg ggt tgg aat cac cag gac gcc gcc gag ttc ctg gcc cac ctg gat	144			
Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp				
35	40	45		
cgc agc atg ttt cac ggg tgc ccc acc cgg gat ttc tcc gcg gcc tgg	192			
Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp				
50	55	60		
gtc aaa gac ccg gaa acc gga gaa acc cgc ccc aag ctg cac aga gtt	240			
Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val				
65	70	75	80	
ggc acc cgc tca ctt tcc cgg tgc cag tac gtt gcc ctg acc cac ccg	288			
Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro				
85	90	95		
cag cgc tcc gcg gtg ctg gtc tta gac atc gac atc ccc agc cac cag	336			
Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln				
100	105	110		
gcc ggc ggg aac atc gag cac ctt cac ccg cag gtg tac gcc acc ttg	384			
Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu				
115	120	125		
gag cgt tgg gca cgg gtg gag aaa gcg ccg gcc tgg atc ggg gtg aac	432			
Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn				
130	135	140		
ccg ttg tcg gga aag tgc cag ctc atc tgg tgc att gac ccg gtg ttc	480			
Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe				
145	150	155	160	
gcc gcc gag ggc acc acc agc tcg aac acc cgc ctg cta gcg gcc acc	528			

Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Ser Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr	
165	170 175
acc gag gaa atg acc cgt gtg ttc ggc gct gac cag gca ttt tcc cac	576
Thr Glu Glu Met Thr Arg Val Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His	
180	185 190
cgg ctg agc cgg tgg ccg ctg cat gtt tct gat gat ccg acc gcg tac	624
Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Ser Asp Asp Pro Thr Ala Tyr	
195	200 205
tcc tgg cac tgc cag cac aac cga gtc gat att ctt gat gag ctg atg	672
Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Ile Leu Asp Glu Leu Met	
210	215 220
gag gta gcc cgc acg atg acc gga tca aaa aag ccc aga gag cac gct	720
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Arg Glu His Ala	
225	230 235 240
cac cag gag ttt tcc agc ggt cgg gca cgg atc gaa gcc gcg cgg aaa	768
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys	
245	250 255
gcc acc gca gag gcc aaa gcg ctt gcc gcc ttg gac gcc acg ctg cct	816
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro	
260	265 270
acg gcg ctg gag gca tca ggc gat ctc att gac ggg gtg cgg gtg ttg	864
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu	
275	280 285
tgg gca gca gag ggg cgt gca gcc cgt gat gag aca gcg ttt cgc cat	912
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His	
290	295 300
gcg ttg acc gtg ggt tat cag ctt aaa gcc gca ggt gaa cgc ctg aaa	960
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys	
305	310 315 320

gat gcc aag atc att gat gcg tat gag cgt gcc tac aac gtc gcc cag	1008
Asp Ala Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln	
325 330 335	
gcg gtg gga gct gat ggg cgt gaa ccg gat ctg cct gcc atg cgt gat	1056
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp	
340 345 350	
cgt cag acg atg gcc cgc cgt gtg cgc gcc tac gtc gcc aaa ggc cag	1104
Arg Gln Thr Met Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln	
355 360 365	
ccc acg gtc agc gcc agg agc aca cag acc cag agc agt cgg ggc cgg	1152
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg	
370 375 380	
aaa gcc ctg gcc acc atg ggc cgc aga ggc ggg caa aaa gcc gct gaa	1200
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Gly Gln Lys Ala Ala Glu	
385 390 395 400	
cgc tgg aaa acc gat cct aac ggc aaa tac gcc caa gaa aac cgc caa	1248
Arg Trp Lys Thr Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Ala Gln Glu Asn Arg Gln	
405 410 415	
cga ctc gaa gct gca aac aag cga cgt caa gtc agc tgg aac aaa tac	1296
Arg Leu Glu Ala Ala Asn Lys Arg Arg Gln Val Ser Trp Asn Lys Tyr	
420 425 430	
gcg agc acg aat tct ggc tac ggt ttc cga cac gta tgg gcc agc ttg	1344
Ala Ser Thr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Arg His Val Trp Ala Ser Leu	
435 440 445	
gaa aaa tgc cta cgc gac gag caa atc atg gaa gaa aca ggg ctt tca	1392
Glu Lys Cys Leu Arg Asp Glu Gln Ile Met Glu Glu Thr Gly Leu Ser	
450 455 460	
cga gct acc gtg acg cgc cat tgg gtg cac tgc gag agg ctg gcc tgc	1440
Arg Ala Thr Val Thr Arg His Trp Val His Cys Glu Arg Leu Ala Cys	

465 470 475 480
 tgc caa atc ctt agg ggg gct cac gcc gta gac aga taa 1479
 Cys Gln Ile Leu Arg Gly Ala His Ala Val Asp Arg

485 490
 【0 0 3 6】

<210> 2
 <211> 492
 <212> PRT
 <213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 2
 Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn
 1 5 10 15
 Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser
 20 25 30
 Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp
 35 40 45
 Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp
 50 55 60
 Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val
 65 70 75 80
 Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro
 85 90 95
 Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln
 100 105 110
 Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu
 115 120 125
 Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn
 130 135 140

Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe
 145 150 155 160
 Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Ser Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr
 165 170 175
 Thr Glu Glu Met Thr Arg Val Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His
 180 185 190
 Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Ser Asp Asp Pro Thr Ala Tyr
 195 200 205
 Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Ile Leu Asp Glu Leu Met
 210 215 220
 Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Arg Glu His Ala
 225 230 235 240
 His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys
 245 250 255
 Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro
 260 265 270
 Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu
 275 280 285
 Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His
 290 295 300
 Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys
 305 310 315 320
 Asp Ala Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln
 325 330 335
 Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp
 340 345 350
 Arg Gln Thr Met Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln
 355 360 365
 Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg

370	375	380
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Gly Gln Lys Ala Ala Glu		
385	390	395
Arg Trp Lys Thr Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Ala Gln Glu Asn Arg Gln		400
405	410	415
Arg Leu Glu Ala Ala Asn Lys Arg Arg Gln Val Ser Trp Asn Lys Tyr		
420	425	430
Ala Ser Thr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Arg His Val Trp Ala Ser Leu		
435	440	445
Glu Lys Cys Leu Arg Asp Glu Gln Ile Met Glu Glu Thr Gly Leu Ser		
450	455	460
Arg Ala Thr Val Thr Arg His Trp Val His Cys Glu Arg Leu Ala Cys		
465	470	475
Cys Gln Ile Leu Arg Gly Ala His Ala Val Asp Arg		480
485	490	

[0 0 3 7]

<210> 3

<211> 1479

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1476)

<400> 3

atg act cta gcg gat tcg cca gga aca tac aca gca gat gcg tgg aat 48

Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn

1

5

10

15

tac tcc act gat ctg ttc gac acc cac cct gag ctg gct tta cgc tcc	96
Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser	
20 25 30	
cgg ggt tgg aat cac cag gac gcc gca gag ttc ctg gcc cac ctg gat	144
Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp	
35 40 45	
cgc agc atg ttt cac ggg tgc ccc acc cgg gat ttc tcc gcg gcc tgg	192
Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp	
50 55 60	
gtc aaa gac ccg gaa acc gga gaa acc cgc ccc aag ctg cac aga gtt	240
Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val	
65 70 75 80	
ggc acc cgc tca ctt tcc cgg tgc cag tac gtt gcc ctg acc cac ccg	288
Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro	
85 90 95	
cag cgc tcc gcg gtg ctg gtc tta gac atc gac atc ccc agc cac cag	336
Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln	
100 105 110	
gcc ggc ggg aac atc gag cac ctt cac ccg cag gtg tac gcc acc ttg	384
Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu	
115 120 125	
gag cgt tgg gca cgg gtg gag aaa gcg ccg gcc tgg atc ggg gtg aac	432
Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn	
130 135 140	
ccg ttg tcg gga aag tgc cag ctc atc tgg tgc att gac ccg gtg ttc	480
Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe	
145 150 155 160	
gcc gcc gag ggc acc acc agc tcg aac acc cgc ctg cta gcg gcc acc	528
Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Ser Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr	

165	170	175	
acc gag gaa atg acc cgt gtg ttc ggc gct gac cag gca ttt tcc cac			576
Thr Glu Glu Met Thr Arg Val Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His			
180	185	190	
cgg ctg agc cgg tgg ccg ctg cat gtt ttt gat gat ccg acc gcg tac			624
Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Phe Asp Asp Pro Thr Ala Tyr			
195	200	205	
tcc tgg cac tgc cag cac aac cga gtc gat att ctt gat gag ctg atg			672
Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Ile Leu Asp Glu Leu Met			
210	215	220	
gag gta gcc cgc acg atg acc gga tca aaa aag ccg aga aag cac gct			720
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Arg Lys His Ala			
225	230	235	240
cac cag gag ttt tcc agc ggt cgg gca cgg atc gaa gcc gcg cgg aaa			768
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys			
245	250	255	
gcc acc gca gag gcc aaa gcg ctt gcc gcc ttg gac gcc acg ctg cct			816
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro			
260	265	270	
acg gcg ctg gag gca tca ggc gat ctc att gac ggg gtg cgg gtg ttg			864
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu			
275	280	285	
tgg gca gca gag ggg cgt gca gcc cgt gat gag aca gcg ttt cgc cat			912
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His			
290	295	300	
gcg ttg acc gtg ggt tat cag ctt aaa gcc gca ggt gaa cgc ctg aaa			960
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys			
305	310	315	320
gat gcc aag atc att gat gcg tat gag cgt gcc tac aac gtc gcc cag			1008

Asp Ala Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln	
325	330 335
gcg gtg gga gct gat ggg cgt gaa ccg gat ctg cct gcc atg cgt gat	1056
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp	
340	345 350
cgt cag acg atg gcc cgc cgt gtg cgc gcc tac gtc gcc aaa ggc cag	1104
Arg Gln Thr Met Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln	
355	360 365
ccc acg gtc agc gcc agg agc aca cag acc cag agc agt cgg ggc cgg	1152
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg	
370	375 380
aaa gcc ctg gcc acc atg ggc cgc aga ggc ggg caa aaa gcc gct gaa	1200
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Gly Gln Lys Ala Ala Glu	
385	390 395 400
cgc tgg aaa acc gat cct aac ggc aaa tac gcc caa gaa aac cgc caa	1248
Arg Trp Lys Thr Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Ala Gln Glu Asn Arg Gln	
405	410 415
cga ctc gaa gct gca aac aag cga cgt caa gtc agc tgg aac aaa tac	1296
Arg Leu Glu Ala Ala Asn Lys Arg Arg Gln Val Ser Trp Asn Lys Tyr	
420	425 430
gcg agc acg aat tct ggc tac ggt ttc cga cac gta tgg gcc agc ttg	1344
Ala Ser Thr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Arg His Val Trp Ala Ser Leu	
435	440 445
gaa aaa tgc cta cgc gac gag caa atc atg gaa gaa aca ggg ctt tca	1392
Glu Lys Cys Leu Arg Asp Glu Gln Ile Met Glu Glu Thr Gly Leu Ser	
450	455 460
cga gct acc gtg acg cgc cat tgg gtg cac tgc gag agg ctg gcc tgc	1440
Arg Ala Thr Val Thr Arg His Trp Val His Cys Glu Arg Leu Ala Cys	
465	470 475 480

tgc caa atc ctt agg ggg gct cac gcc gta cac aga taa

1479

Cys Gln Ile Leu Arg Gly Ala His Ala Val His Arg

485

490

【0 0 3 8】

<210> 4

<211> 492

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 4

Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn

1

5

10

15

Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser

20

25

30

Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp

35

40

45

Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp

50

55

60

Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val

65

70

75

80

Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro

85

90

95

Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln

100

105

110

Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu

115

120

125

Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn

130

135

140

Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe

145	150	155	160
Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Ser Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr			
165	170	175	
Thr Glu Glu Met Thr Arg Val Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His			
180	185	190	
Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Phe Asp Asp Pro Thr Ala Tyr			
195	200	205	
Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Ile Leu Asp Glu Leu Met			
210	215	220	
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Arg Lys His Ala			
225	230	235	240
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys			
245	250	255	
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro			
260	265	270	
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu			
275	280	285	
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His			
290	295	300	
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys			
305	310	315	320
Asp Ala Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln			
325	330	335	
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp			
340	345	350	
Arg Gln Thr Met Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln			
355	360	365	
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg			
370	375	380	

Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Gly Gln Lys Ala Ala Glu
 385 390 395 400
 Arg Trp Lys Thr Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Ala Gln Glu Asn Arg Gln
 405 410 415
 Arg Leu Glu Ala Ala Asn Lys Arg Arg Gln Val Ser Trp Asn Lys Tyr
 420 425 430
 Ala Ser Thr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Arg His Val Trp Ala Ser Leu
 435 440 445
 Glu Lys Cys Leu Arg Asp Glu Gln Ile Met Glu Glu Thr Gly Leu Ser
 450 455 460
 Arg Ala Thr Val Thr Arg His Trp Val His Cys Glu Arg Leu Ala Cys
 465 470 475 480
 Cys Gln Ile Leu Arg Gly Ala His Ala Val His Arg
 485 490

[0 0 3 9]

<210> 5

<211> 1479

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1476)

<400> 5

atg act cta gcg gat tcg cca gga aca tac aca gca gat gcg tgg aat 48
 Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn
 1 5 10 15
 tac tcc act gat ctg ttc gac acc cac cct gag ctg gct tta cgc tcc 96

Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser	
20 25 30	
cgg ggt tgg aat cac cag gac gcc gcc gag ttc ctg gcc cac ctg gat	144
Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp	
35 40 45	
cgc agc atg ttt cac ggg tgc ccc acc cgg gat ttc tcc gcg gcc tgg	192
Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp	
50 55 60	
gtc aaa gac ccg gaa acc gga gaa acc cgc ccc aag ctg cac aga gtt	240
Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val	
65 70 75 80	
ggc acc cgc tca ctt tcc cgg tgc cag tac gtt gcc ctg acc cac ccg	288
Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro	
85 90 95	
cag cgc tcc gcg gtg ctg gtc tta gac atc gac atc ccc agc cac cag	336
Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln	
100 105 110	
gcc ggc ggg aac atc gag cac ctt cac ccg cag gta tac gcc acc ttg	384
Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu	
115 120 125	
gag cgt tgg gca cgg gtg gag aaa gcg ccg gcc tgg atc ggg gtg aac	432
Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn	
130 135 140	
ccg ttg tcg gga aag tgc cag ctc atc tgg tgc att gac ccg gtg ttc	480
Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe	
145 150 155 160	
gcc gcc gag ggc acc acc agc tcg aac acc cgc ctg cta gcg gcc acc	528
Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Ser Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr	
165 170 175	

acc gag gaa atg acc cgt gtg ttc ggc gct gac cag gca ttt tcc cac	576
Thr Glu Glu Met Thr Arg Val Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His	
180 185 190	
cgg ctg agc cgg tgg ccg ctg cat gtt tct gat gat ccg acc gcg tac	624
Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Ser Asp Asp Pro Thr Ala Tyr	
195 200 205	
tcc tgg cac tgc cag cac aac cga gtc gat acg ctt gat gag ctg atg	672
Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Thr Leu Asp Glu Leu Met	
210 215 220	
gag gta gcc cgc acg atg acc gga tca aaa aag ccg aga aag cac gct	720
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Arg Lys His Ala	
225 230 235 240	
cac cag gag ttt tcc agc ggt cgg gca cgg atc gaa gcc gcg cgg aaa	768
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys	
245 250 255	
gcc acc gca gag gcc aaa gcg ctt gcc gcc ttg gac gcc acg ctg cct	816
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro	
260 265 270	
acg gcg ctg gag gca tca ggc gat ctc att gac ggg gtg cgg gtg ttg	864
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu	
275 280 285	
tgg gca gca gag ggg cgt gca gcc cgt gat gag aca gcg ttt cgc cat	912
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His	
290 295 300	
gcg ttg acc gtg ggt tat cag ctt aaa gcc gca ggt gaa cgc ctg aaa	960
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys	
305 310 315 320	
gat gcc aag atc att gat gcg tat gag cgt gcc tac aac gtc gcc cag	1008
Asp Ala Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln	

325	330	335	
gcg gtg gga gct gat ggg cgt gaa ccg gat ctg cct gcc atg cgt gat			1056
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp			
340	345	350	
cgt cag acg atg gcc cgc cgt gtg cgc gcc tac gtc gcc aaa ggc cag			1104
Arg Gln Thr Met Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln			
355	360	365	
ccc acg gtc agc gcc agg agc aca cag acc cag agc agt cgg ggc cgg			1152
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg			
370	375	380	
aaa gcc ctg gcc acc atg ggc cgc aga ggc ggg caa aaa gcc gct gaa			1200
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Gly Gln Lys Ala Ala Glu			
385	390	395	400
cgc tgg aaa acc gat cct aac ggc aaa tac gcc caa gaa aac cgc caa			1248
Arg Trp Lys Thr Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Ala Gln Glu Asn Arg Gln			
405	410	415	
cga ctc gaa gct gca aac aag cga cgt caa gtc agc tgg aac aaa tac			1296
Arg Leu Glu Ala Ala Asn Lys Arg Arg Gln Val Ser Trp Asn Lys Tyr			
420	425	430	
gcg agc acg aat tct ggc tac ggt ttc cga cac gta tgg gcc agc ttg			1344
Ala Ser Thr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Arg His Val Trp Ala Ser Leu			
435	440	445	
gaa aaa tgc cta cgc gac gag caa atc atg gaa gaa aca ggg ctt tca			1392
Glu Lys Cys Leu Arg Asp Glu Gln Ile Met Glu Glu Thr Gly Leu Ser			
450	455	460	
cga gct acc gtg acg cgc cat tgg gtg cac tgc gag agg ctg gcc tgc			1440
Arg Ala Thr Val Thr Arg His Trp Val His Cys Glu Arg Leu Ala Cys			
465	470	475	480
tgc caa atc ctt agg ggg gct cac gcc gta cac aga taa			1479

Cys Gln Ile Leu Arg Gly Ala His Ala Val His Arg

485

490

【0 0 4 0】

<210> 6

<211> 492

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 6

Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn

1

5

10

15

Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser

20

25

30

Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp

35

40

45

Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp

50

55

60

Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val

65

70

75

80

Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro

85

90

95

Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln

100

105

110

Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu

115

120

125

Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn

130

135

140

Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe

145

150

155

160

Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Ser Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr			
	165	170	175
Thr Glu Glu Met Thr Arg Val Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His			
	180	185	190
Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Ser Asp Asp Pro Thr Ala Tyr			
	195	200	205
Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Thr Leu Asp Glu Leu Met			
	210	215	220
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Arg Lys His Ala			
	225	230	235
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys			
	245	250	255
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro			
	260	265	270
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu			
	275	280	285
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His			
	290	295	300
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys			
	305	310	315
Asp Ala Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln			
	325	330	335
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp			
	340	345	350
Arg Gln Thr Met Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln			
	355	360	365
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg			
	370	375	380
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Gly Gln Lys Ala Ala Glu			

385	390	395	400
Arg Trp Lys Thr Asp Pro Asn Gly Lys Tyr Ala Gln Glu Asn Arg Gln			
405	410	415	
Arg Leu Glu Ala Ala Asn Lys Arg Arg Gln Val Ser Trp Asn Lys Tyr			
420	425	430	
Ala Ser Thr Asn Ser Gly Tyr Gly Phe Arg His Val Trp Ala Ser Leu			
435	440	445	
Glu Lys Cys Leu Arg Asp Glu Gln Ile Met Glu Glu Thr Gly Leu Ser			
450	455	460	
Arg Ala Thr Val Thr Arg His Trp Val His Cys Glu Arg Leu Ala Cys			
465	470	475	480
Cys Gln Ile Leu Arg Gly Ala His Ala Val His Arg			
485	490		

【 0 0 4 1 】

<210> 7

<211> 1377

<212> DNA

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<220>

<221> CDS

<222> (1)..(1374)

<400> 7

atg act cta gcg gat tcg cca gga aca tac aca gca gat gcg tgg aat	48
Met Thr Leu Ala Asp Ser Pro Gly Thr Tyr Thr Ala Asp Ala Trp Asn	
1 5 10 15	
tac tcc aca gat ctg ttc gac acc cac cct gag ctg gct tta cgc tcc	96
Tyr Ser Thr Asp Leu Phe Asp Thr His Pro Glu Leu Ala Leu Arg Ser	

20	25	30	
cgg ggt tgg aat cac cag gac gcc gcc gag ttc ctg gcc cac ctg gat			144
Arg Gly Trp Asn His Gln Asp Ala Ala Glu Phe Leu Ala His Leu Asp			
35	40	45	
cgc agc atg ttt cac ggg tgc ccc acc cgg gat ttc tcc gcg gcc tgg			192
Arg Ser Met Phe His Gly Cys Pro Thr Arg Asp Phe Ser Ala Ala Trp			
50	55	60	
gtc aaa gac ccg gag acc gga gaa acc cgc cct aag ctg cac aga gtc			240
Val Lys Asp Pro Glu Thr Gly Glu Thr Arg Pro Lys Leu His Arg Val			
65	70	75	80
ggc acc cgg tcg ctt tcc cga tgc cag tac gtc gcg ctg acc cac ccg			288
Gly Thr Arg Ser Leu Ser Arg Cys Gln Tyr Val Ala Leu Thr His Pro			
85	90	95	
cag cgc tcc gcg gtg ctg gtc tta gac atc gac atc ccc agc cac cag			336
Gln Arg Ser Ala Val Leu Val Leu Asp Ile Asp Ile Pro Ser His Gln			
100	105	110	
gcc ggc ggg aac atc gag cac ctt cac ccg cag gtc tac gcc acc ttg			384
Ala Gly Gly Asn Ile Glu His Leu His Pro Gln Val Tyr Ala Thr Leu			
115	120	125	
gag cgc tgg gca cgg gtg gag aaa gcg ccg gcc tgg atc ggg gtg aac			432
Glu Arg Trp Ala Arg Val Glu Lys Ala Pro Ala Trp Ile Gly Val Asn			
130	135	140	
ccg ttg tca gga aag tgc cag ctc atc tgg tgc att gac ccg gtg ttc			480
Pro Leu Ser Gly Lys Cys Gln Leu Ile Trp Cys Ile Asp Pro Val Phe			
145	150	155	160
gcc gcc gag ggc acc acc agc ccg aac acc cgc ctg cta gcg gcc acc			528
Ala Ala Glu Gly Thr Thr Ser Pro Asn Thr Arg Leu Leu Ala Ala Thr			
165	170	175	
acc gag gaa atg acc cgt atg ttc ggc gct gac cag gca ttt tcc cac			576

Thr Glu Glu Met Thr Arg Met Phe Gly Ala Asp Gln Ala Phe Ser His	
180 185 190	
cgg ctg agc cgg tgg ccg ctg cat gta tct gat gat ccg acc gcg tac	624
Arg Leu Ser Arg Trp Pro Leu His Val Ser Asp Asp Pro Thr Ala Tyr	
195 200 205	
tcc tgg cac tgc cag cac aac cga gtc gat acg ctt gct gag ctg atg	672
Ser Trp His Cys Gln His Asn Arg Val Asp Thr Leu Ala Glu Leu Met	
210 215 220	
gag gta gcc cgc acg atg acc gga tca aaa aag cca gat agc act gct	720
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Asp Ser Thr Ala	
225 230 235 240	
cac cag gag ttt tcc agc ggt cgg gca cgg atc gaa gcc gcg agg aaa	768
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys	
245 250 255	
gcc acc gca gaa gcc aaa gcg ctt gct gcc tta gac gcc acg ctg cct	816
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro	
260 265 270	
acg gcg ctg gag gca tca ggc gat ctc att gac ggg gtg cgg gtg ctg	864
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu	
275 280 285	
tgg gca gca gag ggg cgt gca gcc cgt gat gag acg gcg ttt cgc cat	912
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His	
290 295 300	
gcg ttg acc gtg ggg tat cag ctt aaa gcc gca ggt gaa cgc ctg aaa	960
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys	
305 310 315 320	
gac acc aag atc att gat gcg tat gag cgt gcc tac aac gtc gcc cag	1008
Asp Thr Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln	
325 330 335	

gcg gtg ggg gct gat ggg cgt gag ccg gat ctg cct gcc atg cgt gat	1056
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp	
340 345 350	
cgt cag acg ttg gcc cgt cgt gtg cgc gcc tac gtc gct aaa ggc cag	1104
Arg Gln Thr Leu Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln	
355 360 365	
ccc acg gtg agc gcc agg agc aca cag acc cag agc agc cgg ggc agg	1152
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg	
370 375 380	
aaa gcc ctg gcc acc atg gga cgc aga ggc gca gcc acc tcg aat gca	1200
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Ala Ala Thr Ser Asn Ala	
385 390 395 400	
cgc agg tgg gca gac cca gaa agc gat tac gcc cgc caa act cgg gag	1248
Arg Arg Trp Ala Asp Pro Glu Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Thr Arg Glu	
405 410 415	
cgt tta gcc cga gca atg agc ttc gta cat tca gca cag acg aga aca	1296
Arg Leu Ala Arg Ala Met Ser Phe Val His Ser Ala Gln Thr Arg Thr	
420 425 430	
agg gcc gga tcc tgg cct acg ttt ccg agt gca agc gcc acg gtt acg	1344
Arg Ala Gly Ser Trp Pro Thr Phe Pro Ser Ala Ser Ala Thr Val Thr	
435 440 445	
acc cca cga gca aag aag tcg caa cgg agc tag	1377
Thr Pro Arg Ala Lys Lys Ser Gln Arg Ser	
450 455	

【0 0 4 2】

<210> 8

<211> 458

<212> PRT

<213> *Corynebacterium thermoaminogenes*

<400> 8

Met	Thr	Leu	Ala	Asp	Ser	Pro	Gly	Thr	Tyr	Thr	Ala	Asp	Ala	Trp	Asn
1				5					10					15	
Tyr	Ser	Thr	Asp	Leu	Phe	Asp	Thr	His	Pro	Glu	Leu	Ala	Leu	Arg	Ser
			20					25						30	
Arg	Gly	Trp	Asn	His	Gln	Asp	Ala	Ala	Glu	Phe	Leu	Ala	His	Leu	Asp
			35					40						45	
Arg	Ser	Met	Phe	His	Gly	Cys	Pro	Thr	Arg	Asp	Phe	Ser	Ala	Ala	Trp
		50				55								60	
Val	Lys	Asp	Pro	Glu	Thr	Gly	Glu	Thr	Arg	Pro	Lys	Leu	His	Arg	Val
	65					70				75				80	
Gly	Thr	Arg	Ser	Leu	Ser	Arg	Cys	Gln	Tyr	Val	Ala	Leu	Thr	His	Pro
						85				90				95	
Gln	Arg	Ser	Ala	Val	Leu	Val	Leu	Asp	Ile	Asp	Ile	Pro	Ser	His	Gln
			100					105						110	
Ala	Gly	Gly	Asn	Ile	Glu	His	Leu	His	Pro	Gln	Val	Tyr	Ala	Thr	Leu
			115					120						125	
Glu	Arg	Trp	Ala	Arg	Val	Glu	Lys	Ala	Pro	Ala	Trp	Ile	Gly	Val	Asn
		130						135						140	
Pro	Leu	Ser	Gly	Lys	Cys	Gln	Leu	Ile	Trp	Cys	Ile	Asp	Pro	Val	Phe
	145					150				155				160	
Ala	Ala	Glu	Gly	Thr	Thr	Ser	Pro	Asn	Thr	Arg	Leu	Leu	Ala	Ala	Thr
						165				170				175	
Thr	Glu	Glu	Met	Thr	Arg	Met	Phe	Gly	Ala	Asp	Gln	Ala	Phe	Ser	His
			180					185						190	
Arg	Leu	Ser	Arg	Trp	Pro	Leu	His	Val	Ser	Asp	Asp	Pro	Thr	Ala	Tyr
			195					200						205	
Ser	Trp	His	Cys	Gln	His	Asn	Arg	Val	Asp	Thr	Leu	Ala	Glu	Leu	Met

210	215	220
Glu Val Ala Arg Thr Met Thr Gly Ser Lys Lys Pro Asp Ser Thr Ala		
225	230	235
His Gln Glu Phe Ser Ser Gly Arg Ala Arg Ile Glu Ala Ala Arg Lys		240
	245	250
Ala Thr Ala Glu Ala Lys Ala Leu Ala Ala Leu Asp Ala Thr Leu Pro		255
	260	265
Thr Ala Leu Glu Ala Ser Gly Asp Leu Ile Asp Gly Val Arg Val Leu		270
	275	280
Trp Ala Ala Glu Gly Arg Ala Ala Arg Asp Glu Thr Ala Phe Arg His		285
	290	295
Ala Leu Thr Val Gly Tyr Gln Leu Lys Ala Ala Gly Glu Arg Leu Lys		300
305	310	315
Asp Thr Lys Ile Ile Asp Ala Tyr Glu Arg Ala Tyr Asn Val Ala Gln		320
	325	330
Ala Val Gly Ala Asp Gly Arg Glu Pro Asp Leu Pro Ala Met Arg Asp		335
	340	345
Arg Gln Thr Leu Ala Arg Arg Val Arg Ala Tyr Val Ala Lys Gly Gln		350
	355	360
Pro Thr Val Ser Ala Arg Ser Thr Gln Thr Gln Ser Ser Arg Gly Arg		365
	370	375
Lys Ala Leu Ala Thr Met Gly Arg Arg Gly Ala Ala Thr Ser Asn Ala		380
385	390	395
Arg Arg Trp Ala Asp Pro Glu Ser Asp Tyr Ala Arg Gln Thr Arg Glu		400
	405	410
Arg Leu Ala Arg Ala Met Ser Phe Val His Ser Ala Gln Thr Arg Thr		415
	420	425
Arg Ala Gly Ser Trp Pro Thr Phe Pro Ser Ala Ser Ala Thr Val Thr		430
	435	440
		445

Thr Pro Arg Ala Lys Lys Ser Gln Arg Ser

450

455

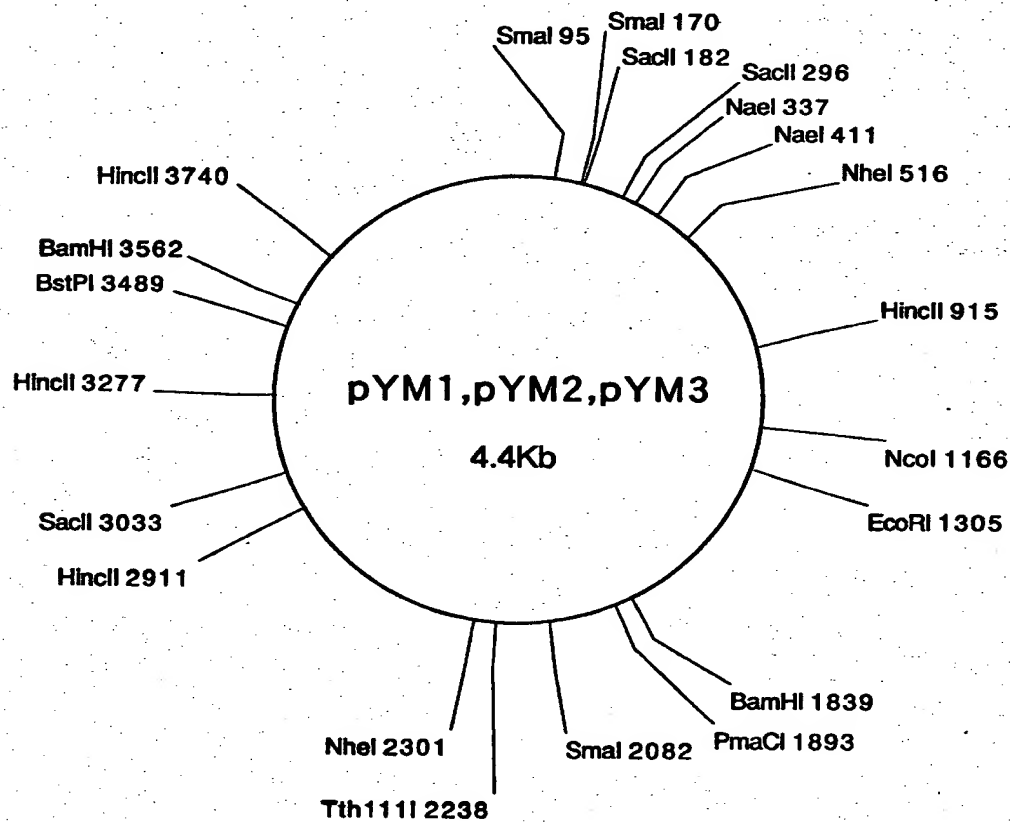
【図面の簡単な説明】

【図 1】 本発明のプラスミド p YM 1、p YM 2 及び p YM 3 の制限酵素地図。

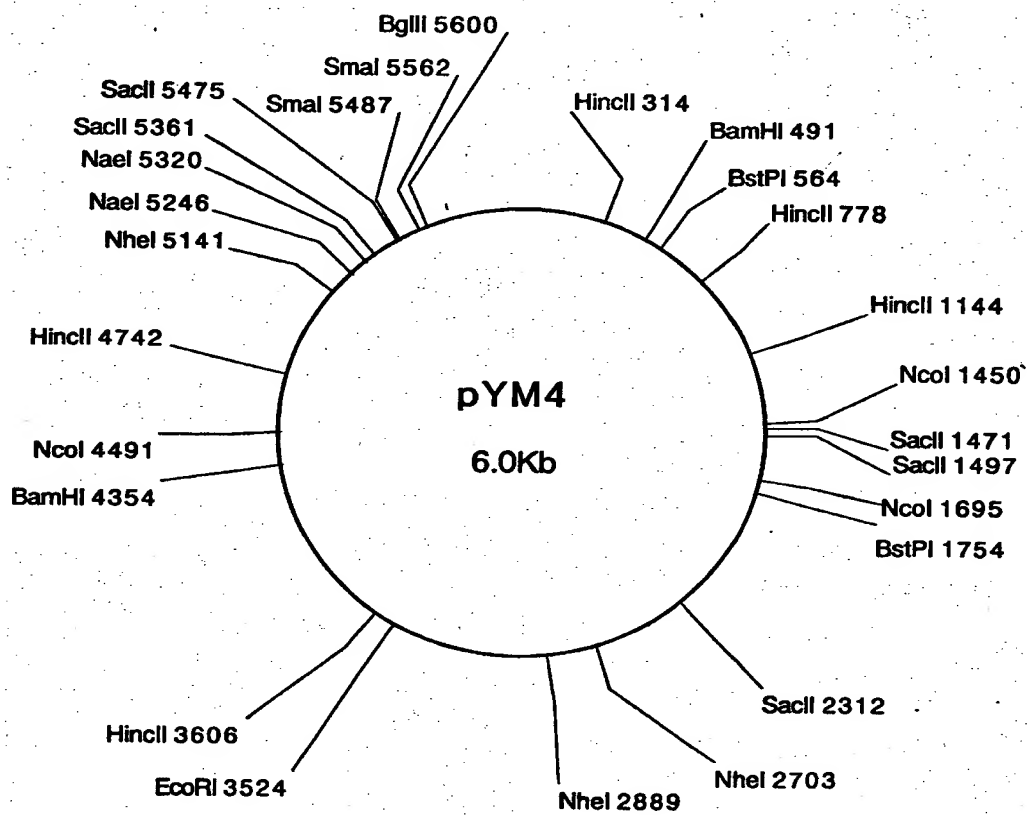
【図 2】 本発明のプラスミド p YM 4 の制限酵素地図。

【書類名】 図面

【図 1】



【図 2】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 高温で生育可能なコリネ型細菌コリネバクテリウム・サーモアミノゲネスの育種、改良に有用なプラスミドを提供する。

【解決手段】 コリネバクテリウム・サーモアミノゲネス FERM BP-1539、FERM BP-1540、FERM BP-1541 及び FERM BP-1542 から、配列番号 2、4、6、及び 8 に示すアミノ酸配列を有する r e p タンパク質をコードする遺伝子を保持するプラスミドを単離する。

【選択図】 図 1

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [000000066]

1. 変更年月日	1991年 7月 2日
[変更理由]	住所変更
住 所	東京都中央区京橋1丁目15番1号
氏 名	味の素株式会社